



19 BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENTAMT

12 Offenlegungsschrift
10 DE 195 36 783 A 1

21 Aktenzeichen: 195 36 783.9
22 Anmeldetag: 21. 9. 95
43 Offenlegungstag: 27. 3. 97

51 Int. Cl.⁸:
C 07 K 14/00
C 07 F 19/00
A 61 K 51/04
C 07 K 7/00
C 07 K 9/00
C 07 K 16/00
C 07 H 21/00
C 07 D 213/82
G 21 H 5/02
G 01 T 1/164
// C 07 H 21/00, A 61 K
103:10, C 07 F 13/00,
9/58

DE 195 36 783 A 1

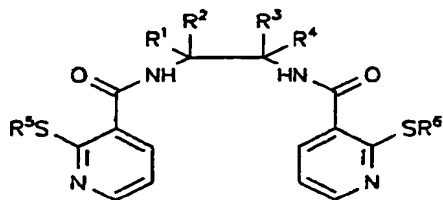
71 Anmelder:
Institut für Diagnostikforschung GmbH an der Freien
Universität Berlin, 14050 Berlin, DE

74 Vertreter:
Wablat, W., Dipl.-Chem. Dr.-Ing. Dr.jur., Pat.-Anw.,
14129 Berlin

72 Erfinder:
Dinkelborg, Ludger, Dr., 13583 Berlin, DE; Hilger,
Christoph Stephan, Dr., 13353 Berlin, DE; Kramp,
Wolfgang, Dr., 13503 Berlin, DE; Platzek, Johannes,
Dr., 12621 Berlin, DE; Radüchel, Bernd, Dr., 13485
Berlin, DE

54 Bifunktionelle Nicotinamid-Chelatbildner vom Typ N₂S₂ für radioaktive Isotope

57 Die Erfindung betrifft neue Verbindungen der allgemeinen
Formel (I)
M - L
worin
M für ein Radioisotop von Tc oder Re und L für einen
Liganden der allgemeinen Formel (II)



(I I)

steht,
worin R¹, R², R³, R⁴, R⁵ und R⁶ unterschiedliche Bedeutung
haben können und für Gruppen stehen, die einerseits für die
koordinative Bindung von Metallionen, andererseits für die
Kopplung an sich selektiv anreichernde Verbindungen geeig-
net sind.
Die neuen Verbindungen dienen zur Komplexierung von
Technetium und Rhenium und werden in der medizinischen
Diagnostik und Therapie eingesetzt.

DE 195 36 783 A 1

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

BUNDESDRUCKEREI 01. 97 702 013/608

23/31

Beschreibung

Die Erfindung betrifft neue, Nicotinamide enthaltende Chelatbildner, diese Verbindungen enthaltende pharmazeutische Mittel, ihre Verwendung in der Radiodiagnostik und Radiotherapie, Verfahren zur Herstellung dieser Verbindungen und Mittel, sowie Konjugate dieser Verbindungen mit sich in erkranktem Gewebe selektiv anreichernden Substanzen, insbesondere Peptiden.

Die Anwendung von Radiopharmaka für diagnostische und therapeutische Zwecke ist seit langem im Bereich der biologischen und medizinischen Forschung bekannt. Insbesondere werden Radiopharmaka dazu benutzt, um bestimmte Strukturen wie beispielsweise das Skelett, Organe oder Gewebe, darzustellen. Die diagnostische Anwendung setzt den Gebrauch solcher radioaktiver Mittel voraus, die sich nach Applikation spezifisch in solchen Strukturen im Patienten anreichern, die untersucht werden sollen. Diese sich lokal anreichernden radioaktiven Mittel können dann mittels geeigneter Detektoren, wie beispielsweise Szintillations-Kameras oder anderer geeigneter Aufnahmeverfahren, aufgespürt, geplottet oder szintigraphiert werden. Die Verteilung und relative Intensität des detektierten radioaktiven Mittels kennzeichnet den Ort einer Struktur, in dem sich das radioaktive Mittel befindet und kann die Anwesenheit von Anomalien in Struktur und Funktion, pathologische Veränderungen etc. darstellen. In ähnlicher Weise können Radiopharmaka als therapeutische Mittel angewendet werden, um bestimmte krankhafte Gewebe oder Bereiche zu bestrahlen. Solche Behandlung erfordert die Herstellung radioaktiver therapeutischer Mittel, die sich in bestimmten Strukturen, Geweben oder Organen anreichern.

Durch Anreicherung dieser Mittel wird die therapeutische Strahlung direkt an das pathologische Gewebe herangetragen.

Die Anwendung von sowohl diagnostischen als auch therapeutischen Radiopharmaka setzt radioaktiv markierbare Verbindungen voraus. Im Falle metallischer Radionuklide kann das Metall in freier Form als ein Ion oder in Form eines Metallkomplexes mit einem oder mehreren Liganden vorliegen. Beispiele für metallische Radionuklide, die Komplexe bilden können, sind Technetium-99m und die verschiedenen Rheniumisotope. Das erste wird in der Diagnostik und das zweite in der Therapie verwendet. Die Radiopharmaka enthalten geeignete Träger und Zusatzstoffe, die eine Injektion, Inhalation oder Ingestion durch den Patienten erlauben, ebenso wie physiologische Puffer, Salze etc.

Das für nuklearmedizinische Fragestellungen am häufigsten verwendete Radionuklid ist Technetium-99m, das sich aufgrund seiner günstigen physikalischen Eigenschaften (keine Korpuskularstrahlung, 6 h physikalische Halbwertszeit, 140 KeV gamma-Strahlung) und der daraus resultierenden geringen Strahlenbelastung besonders gut als Radioisotop für die in vivo-Diagnostik eignet. Technetium-99m läßt sich problemlos aus Nuklidgeneratoren als Pertechnetat gewinnen und ist in dieser Form direkt für die Herstellung von Kits für den klinischen Routinebedarf zu verwenden.

Die Herstellung von Radiopharmaka erfordert zunächst die Synthese eines geeigneten Liganden. Anschließend wird separat der Komplex mit dem Radionuklid dargestellt (Markierung). Der hergestellte Ligand, stets in Form eines lyophilisierten Kits wird dazu mit einer das Radionuklid enthaltenden Lösung unter Komplexbildungsbedingungen umgesetzt. Ist beispielsweise die Herstellung eines Technetium-99m Radiopharmakons gewünscht, so wird der hergestellte Ligand unter Zusatz eines geeigneten Reduktionsmittels mit einer Pertechnetat-Lösung versetzt und unter geeigneten Reaktionsbedingungen der entsprechende Technetium-Komplex hergestellt. Diese Komplexe werden dann dem Patienten in geeigneter Weise durch Injektion, Inhalation oder Ingestion verabreicht.

Die das Radionuklid enthaltenden Lösungen können, wie im Falle von Technetium-99m, aus einem erhältlichen Mo-99/Tc-99m Nuklid-Generator gewonnen werden, oder von einem Hersteller, wie im Falle von Rhenium-186, bezogen werden. Die Komplexbildungsreaktion wird unter geeigneten Temperaturen (z. B. 20° – 100°C) innerhalb weniger Minuten bis mehreren Stunden durchgeführt. Um eine vollständige Komplexbildung zu gewährleisten, ist ein großer Überschuß mehr als 100-facher Überschuß zum Metall-Radionuklid) des hergestellten Liganden und eine ausreichende Menge an Reduktionsmittel für eine vollständige Reduktion des eingesetzten Radionuklids erforderlich.

Radiopharmazeutische Mittel werden durch Kombination des Radionuklid-Komplexes, in einer für die diagnostische oder therapeutische Anwendung ausreichenden Menge, mit pharmakologisch akzeptablen radiologischen Trägerstoffen hergestellt. Dieser radiologische Trägerstoff sollte günstige Eigenschaften für die Applikation des radiopharmazeutischen Mittels in Form einer Injektion, Inhalation oder Ingestion aufweisen. Beispiele solcher Trägerstoffe sind HSA, wäßrige Pufferlösungen, z. B. Tris-(hydroxymethyl)aminoethane (bzw. deren Salze), Phosphat, Citrat, Bicarbonat usw., steriles Wasser, physiologische Kochsalzlösung, isotonische Chlorid- oder Dicarbonat-Ionenlösungen oder normale Plasma-Ionen wie Ca^{2+} , Na^{+} , K^{+} und Mg^{2+} .

Da Technetium in einer Reihe von Oxidationsstufen (+7 bis -1) vorliegen kann, ist es häufig erforderlich, daß radiopharmazeutische Mittel zusätzliche Mittel enthalten, die als Stabilisatoren bekannt sind. Diese halten das Radionuklid in einer stabilen Form, bis es mit dem Liganden reagiert hat. Diese Stabilisatoren können Mittel, die als Transfer- oder Hilfsliganden bekannt sind, beinhalten, die besonders nützlich dazu sind, das Metall in einer wohl definierten Oxidationsstufe zu stabilisieren und zu komplexieren, bis der Zielligand über einen Ligandenaustausch das Metall komplexiert. Beispiele dieser Art von Hilfsliganden sind (einschließlich deren Salze) Gluconheptonsäure, Weinsäure, Zitronensäure oder andere gebräuchliche Liganden, wie später genauer ausgeführt ist.

Standardmäßig werden radionuklidhaltige Radiopharmazeutika dargestellt, indem zunächst der Ligand synthetisiert und anschließend mit dem Metall-Radionuklid in geeigneter Weise umgesetzt wird, um einen entsprechenden Komplex zu bilden, in dem notwendigerweise der Ligand nach Komplexbildung unverändert, mit Ausnahme der Abspaltung eventuell vorhandener Schutzgruppen oder Wasserstoffionen, vorliegen muß. Die Entfernung dieser Gruppen erleichtert die Koordination des Liganden am Metallion und führt so zu einer

raschen Komplexbildung.

Zur Bildung von Technetium-99m-Komplexen wird Pertechnetat zunächst aus einem Nuklidgenerator gewonnen und durch Verwendung geeigneter Reduktionsmittel (z. B. SnCl_2 , $\text{S}_2\text{O}_4^{2-}$ etc.) in eine niedrigere Oxidationsstufe überführt, die anschließend durch einen geeigneten Chelator stabilisiert wird. Da Technetium in einer Reihe von Oxidationsstufen (+7 bis -1) vorliegen kann, die die pharmakologischen Eigenschaften durch Veränderungen der Ladungen eines Komplexes stark verändern können, ist es notwendig, Chelatoren bzw. Komplexliganden für Technetium-99m bereitzustellen, die Technetium sicher, fest und stabil in einer definierten Oxidationsstufe binden können, um zu verhindern, daß durch in vivo ablaufende Redoxprozesse bzw. Technetium-freisetzungen aus den entsprechenden Radiodiagnostika eine unerwünschte Biodistribution stattfindet, die eine sichere Diagnostik entsprechender Erkrankungen erschwert.

Die Effizienz von Radionukliden in der in vivo Diagnostik, als auch der Therapie hängt von der Spezifität und der Selektivität der markierten Chelate zur Targetzelle ab. Eine Verbesserung dieser Eigenschaften ist durch Kopplung der Chelate an Biomoleküle nach dem "Drug-Targeting"-Prinzip zu erreichen. Als Biomoleküle bieten sich Antikörper, deren Fragmente, Hormone, Wachstumsfaktoren und Substrate von Rezeptoren und Enzymen an. So wird in der britischen Patentanmeldung GB 2,109,407 die Verwendung radioaktiv markierter monoklonaler Antikörper gegen tumorassoziierte Antigene, für die in vivo Tumordiagnostik beschrieben. Ebenso wurden direkte Proteinmarkierungen über Donor-Gruppen (Amino-, Amid-, Thiol-, etc.) des Proteins (Rhodes, B.A. et al, J. Nucl. Med. 1986, 27 685-693) oder durch Einführen von Komplexbildnern (US-Patent 4,479,930 und Fritzberg, A.R. et al, Nucl. Med. 1986, 27, 957) mit Technetium-99m beschrieben. Diese experimentellen Methoden stehen jedoch für die klinische Anwendung nicht zur Verfügung, da zum einen die Selektivität zu niedrig und zum anderen die Backgroundaktivität im Organismus zu hoch ist, um ein in vivo Imaging zu ermöglichen.

Als geeignete Komplexbildner für Technetium und Rheniumisotope gelten z. B. zyklische Amine wie sie von Volkert et al. (Appl. Radiol. Isot. 1982, 33; 891) und Troutner et al. (J. Nucl. Med. 1980, 21; 443) beschrieben werden, die aber den Nachteil haben, daß sie häufig erst ab einem pH-Wert 9 in der Lage sind, Technetium-99m in guten Ausbeuten zu binden. N_2O_2 -Systeme (Pillai, M.R.A., Troutner, D.E. et al; Inorg. Chem. 1990, 29; 1850) befinden sich in der klinischen Anwendung. Nichtzyklische N_4 -Systeme wie z. B. das HMPAO haben als großen Nachteil ihre geringe Komplexstabilität. Tc-99m-HMPAO muß wegen seiner Instabilität (Ballinger, J.R. et al, Appl. Radiat. Isot. 1991, 42; 315, Billingham, M.W. et al, Appl. Radiat. Isot. 1991, 42; 607) innerhalb von 30 Minuten nach seiner Markierung appliziert werden, damit der Anteil an Zerfallsprodukten, die eine andere Pharmakokinetik und Ausscheidung besitzen, klein gehalten werden kann. Solche radiochemischen Verunreinigungen erschweren die Erkennung von zu diagnostizierenden Erkrankungen. Eine Kopplung dieser Chelate bzw. Chelatbildner an andere, sich selektiv in Krankheitsherden anreichernde Substanzen ist nicht mit einfachen Mitteln zu lösen, so daß sich diese im allgemeinen unspezifisch im Organismus verteilen.

N_2S_2 -Chelatoren (Bormans, G. et al; Nucl. Med. Biol. 1990, 17; 499) wie z. B. Ethylendicystein (EC; Verbruggen, A.M. et al; J. Nucl. Med. 1992, 33; 551) erfüllen zwar die Forderung nach hinreichender Stabilität des entsprechenden Technetium-99m-Komplexes, bilden aber erst ab einem pH-Wert des Komplexbildungsmediums 9 Radiodiagnostika mit einer Reinheit von größer 69%. N_2S -Systeme (Fritzburg, A.; EP-0173424 und EP-0250013) bilden zwar stabile Technetium-99m-Komplexe, müssen aber zur Bildung eines einheitlichen Radiopharmakons auf Temperaturen von ca. 100°C erhitzt werden.

In den letzten Jahren ist das Verlangen nach sich spezifisch in erkrankten Geweben anreichernden Radiodiagnostika gestiegen. Dies kann erreicht werden, wenn Komplexbildner leicht an sich selektiv anreichernde Substanzen gekoppelt werden können und dabei ihre günstigen Komplexbildungseigenschaften nicht verlieren. Da es aber sehr häufig dazu kommt, daß nach Kopplung eines Komplexbildners unter Nutzung einer seiner funktionellen Gruppen an ein solches Molekül eine Abschwächung der Komplexstabilität beobachtet wird, erscheinen die bisherigen Ansätze zur Kupplung von Chelatbildnern an sich selektiv anreichernde Substanzen wenig zufriedenstellend, da ein diagnostisch nicht tolerierbarer Anteil des Isotops aus dem Konjugat in vivo freigesetzt wird (Brechtel, M.W. et al; Inorg. chem. 1986, 25, 2772). Es ist deswegen notwendig, bifunktionelle Komplexbildner darzustellen, die sowohl funktionelle Gruppen zur Bindung des gewünschten Metallions als auch eine (andere, mehrere) funktionelle Gruppe zur Bindung des sich selektiv anreichernden Moleküls tragen. Solche bifunktionellen Liganden ermöglichen eine spezifische, chemisch definierte Bindung von Technetium- oder Rhenium-Isotopen an verschiedenste biologische Materialien, auch dann, wenn ein sogenanntes Prelabeling durchgeführt wird. Es wurden einige Chelatbildner, gekoppelt an monoklonale Antikörper (z. B. EP-0247866 und EP-0188256) oder Fettsäuren (EP-0200492), beschrieben. Als Chelatbildner werden jedoch die bereits erwähnten N_2S_2 -Systeme verwendet, die aufgrund ihrer geringen Stabilität wenig geeignet sind. Da sowohl die sich selektiv anreichernden Substanzen in ihren Eigenschaften, sowie auch die Mechanismen, nach denen sie angereichert werden, sehr unterschiedlich sind, ist es weiterhin notwendig, den kopplungsfähigen Chelatbildner zu variieren und den physiologischen Anforderungen des Kopplungspartners hinsichtlich seiner Lipophilie, Membranpermeabilität etc. anpassen zu können.

Der Erfindung liegt daher die Aufgabe zugrunde, stabile Komplexverbindungen, die gekoppelt oder fähig zur Kopplung an unterschiedliche sich selektiv anreichernde Verbindungen sind, zur Verfügung zu stellen, ohne daß deren Spezifität und Selektivität wesentlich beeinflusst wird. Zusätzlich besteht die Aufgabe, solche koppelbaren Chelatoren oder Komplexe bereitzustellen, die über eine größere chemische Variationsbreite der Substituenten verfügen, um diese den oben referierten Erfordernissen anpassen zu können. Dabei müssen gleichzeitig die Voraussetzungen für die Anwendung dieser Verbindungen am Menschen bezüglich aufgenommener Strahlendosis, Stabilität und Löslichkeit der Verbindungen erfüllt sein.

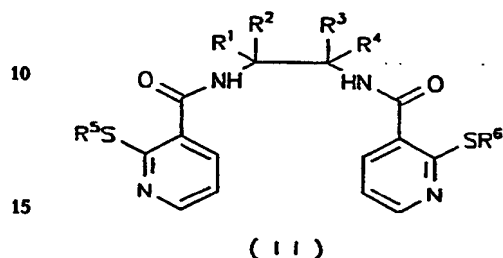
Diese Aufgabe erfindungsgemäß dadurch gelöst, daß neue, bifunktionelle, thiolsubstituierte Nicotinamide enthaltende Chelatbildner und deren Kopplungsprodukte mit sich spezifisch anreichernden Verbindungen zur Verfügung gestellt werden.

Gegenstand der Erfindung sind Verbindungen der allgemeinen Formel (I)

M — L (I)

5 worin

M ein Radioisotop von Tc oder Re und L einen Liganden der allgemeinen Formel (II)



bedeutet, worin

20 R^1 und R^3 gleich oder unterschiedlich sind und jeweils für ein Wasserstoffatom und/oder für einen verzweigten oder unverzweigten C_{1-6} -Alkylrest oder gemeinsam einen gegebenenfalls substituierten, gesättigten oder ungesättigten, aliphatischen oder aromatischen C_{3-6} -Zyklus stehen,

R^2 und R^4 gleich oder unterschiedlich sind und jeweils für ein Wasserstoffatom, für einen verzweigten oder unverzweigten C_{1-6} -Alkylrest oder einen Rest $-CO-R^7$, worin

25 R^7 eine Hydroxyl-, eine verzweigte oder geradkettige, zyklische oder polyzyklische C_{1-30} -Alkoxy-, Alkenyloxy-, Polyalkenyloxy-, Alkinyloxy-, Polyalkinyloxy-, Aryloxy-, Alkylaryloxy- oder Arylalkyloxygruppe, die gegebenenfalls mit Hydroxy-, Oxy-, Oxo-, Carboxy-, Aminocarbonyl-, Alkoxy-, Aldehyd- oder Alkoxygruppen mit bis zu 20 Kohlenstoffatomen substituiert ist und/oder gegebenenfalls durch ein oder mehrere Heteroatome aus der Reihe O, N, S, P, As, Se unterbrochen und/oder substituiert ist und gegebenenfalls

30 gemeinsam ein Anhydrid bilden oder eine $N(RaRb)$ -Gruppe darstellt, wobei Ra und Rb gleich oder verschieden sind und/oder ein Wasserstoffatom, einen verzweigten oder geradkettigen, zyklischen oder polyzyklischen C_{1-30} -Alkyl-, Alkenyl-, Polyalkenyl-, Alkinyl-, Polyalkinyl-, Aryl-, Alkylaryl- oder Arylalkylrest darstellen, der gegebenenfalls mit Hydroxy-, Oxy-, Oxo-, Carboxy-, Aminocarbonyl-, Alkoxy-, Aldehyd- oder Alkoxygruppen mit bis zu 20 Kohlenstoffatomen substituiert ist und/oder gegebenenfalls durch ein oder mehrere

35 Heteroatome aus der Reihe O, N, S, P, As, Se unterbrochen und/oder substituiert ist, darstellt, steht, R^5 und R^6 gleich oder unterschiedlich sind und jeweils für ein Wasserstoffatom, für einen verzweigten oder unverzweigten C_{1-6} -Alkylrest oder für eine Schwefelschutzgruppe stehen.

Bevorzugte Verbindungen der allgemeinen Formel (I) zeichnen sich dadurch aus, daß R^1 und R^3 Wasserstoffatome sind.

40 Besonders bevorzugte Verbindungen der allgemeinen Formel (I) zeichnen sich dadurch aus, daß R^1 , R^2 , und R^3 Wasserstoffatome sind und R^4 für einen Rest $-CO-R^7$, worin

R^7 eine Hydroxyl-, eine verzweigte oder geradkettige, zyklische oder polyzyklische C_{1-30} -Alkoxy-, Alkenyloxy-, Polyalkenyloxy-, Alkinyloxy-, Polyalkinyloxy-, Aryloxy-, Alkylaryloxy- oder Arylalkyloxygruppe darstellt, die gegebenenfalls mit Hydroxy-, Oxy-, Oxo-, Carboxy-, Aminocarbonyl-, Alkoxy-, Aldehyd- oder Alkoxygruppen mit bis zu 20 Kohlenstoffatomen substituiert ist und/oder gegebenenfalls durch ein oder mehrere

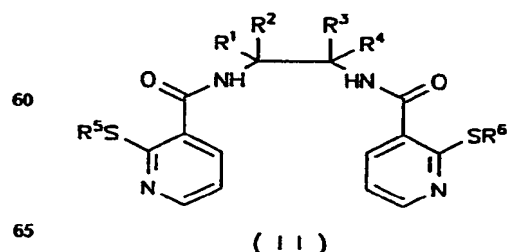
45 Heteroatome aus der Reihe O, N, S, P, As, Se unterbrochen und/oder substituiert ist oder eine $N(RaRb)$ -Gruppe ist, wobei

Ra und Rb gleich oder verschieden sind und/oder ein Wasserstoffatom, einen verzweigten oder geradkettigen, zyklischen oder polyzyklischen C_{1-30} -Alkyl-, Alkenyl-, Polyalkenyl-, Alkinyl-, Polyalkinyl-, Aryl-, Alkylaryl- oder Arylalkylrest darstellen, der gegebenenfalls mit Hydroxy-, Oxy-, Oxo-, Carboxy-, Aminocarbonyl-, Alkoxy-, Aldehyd- oder Alkoxygruppen mit bis zu 20 Kohlenstoffatomen substituiert ist und/oder

50 gegebenenfalls durch ein oder mehrere Heteroatome aus der Reihe O, N, S, P, As, Se unterbrochen und/oder substituiert ist, steht.

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung betrifft die neuen bifunktionellen thiolsubstituierten Nicotinamid-Liganden der allgemeinen Formel (II)

55



worin

R¹, R², R³, R⁴, R⁵ und R⁶ die voranstehend angegebene Bedeutung haben.

Bevorzugt sind erfindungsgemäße Liganden der allgemeinen Formel (II), in denen R¹ und R³ Wasserstoffatome sind.

Besonders bevorzugt sind erfindungsgemäße Liganden bei denen R¹, R² und R³ Wasserstoffatome sind und R⁴ für einen Rest —CO—R⁷ steht,

worin

R⁷ eine Hydroxyl-, eine verzweigte oder geradkettige, zyklische oder polyzyklische C₁–₃₀-Alkoxy-, Alkenyloxy-, Polyalkenyloxy-, Alkinyloxy-, Polyalkinyloxy-, Aryloxy-, Alkylaryloxy- oder Arylalkyloxygruppe darstellt, die gegebenenfalls mit Hydroxy-, Oxy-, Oxo-, Carboxy-, Aminocarbonyl-, Alkoxycarbonyl-, Amino-, Aldehyd- oder Alkoxygruppen mit bis zu 20 Kohlenstoffatomen substituiert ist und/oder gegebenenfalls durch ein oder mehrere Heteroatome aus der Reihe O, N, S, P, As, Se unterbrochen und/oder substituiert ist oder eine N(RaRb)-Gruppe ist, wobei

Ra und Rb gleich oder verschieden sind und/oder ein Wasserstoffatom, einen verzweigten oder geradkettigen, zyklischen oder polyzyklischen C₁–₃₀-Alkyl-, Alkenyl-, Polyalkenyl-, Alkynyl-, Polyalkynyl-, Aryl-, Alkylaryl- oder Arylalkylrest darstellen, der gegebenenfalls mit Hydroxy-, Oxy-, Oxo-, Carboxy-, Aminocarbonyl-, Alkoxycarbonyl-, Amino-, Aldehyd- oder Alkoxygruppen mit bis zu 20 Kohlenstoffatomen substituiert ist und/oder gegebenenfalls durch ein oder mehrere Heteroatome aus der Reihe O, N, S, P, As, Se unterbrochen und/oder substituiert ist.

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung sind Konjugate enthaltend eine Verbindung der allgemeinen Formel (I und/oder II) und sich selektiv in erkranktem Gewebe anreichernde Substanzen, wobei zwischen diesen eine kovalente Bindung besteht und diese im Falle von Carboxyl- oder Aminogruppen enthaltenden Substanzen wie natürlich vorkommenden oder modifizierten Oligonukleotiden, bei denen der Abbau durch natürlich vorkommende Nukleasen verhindert oder erschwert ist, Peptiden, Proteinen, Antikörpern oder deren Fragmente amidisch oder im Falle von Hydroxylgruppen enthaltenden Substanzen wie Fettalkoholen esterartig oder im Falle von Aldehydgruppen enthaltenden Substanzen imidisch vorliegt.

Besonders bevorzugte Konjugate zeichnen sich dadurch aus, daß die sich im erkrankten Gewebe anreichern den Substanzen Peptide wie Endotheline, Teilsequenzen von Endothelinen, Endothelin-Analoga, Endothelin-Derivate, Endothelin-Antagonisten oder Angiotensine, Teilsequenzen von Angiotensinen, Angiotensin-Analoga, Angiotensin-Derivate und Angiotensin-Antagonisten bedeuten.

In weiteren bevorzugten erfindungsgemäßen Konjugaten weisen die Peptide die folgenden Sequenzen

Cys-Ser-Cys-Ser-Ser-Leu-Met-Asp-Lys-Glu-Cys-Val-Tyr

Phe-Cys-His-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp,

Cys-Ser-Cys-Ser-Ser-Trp-Leu-Asp-Lys-Glu-Cys-Val-Tyr-

Phe-Cys-His-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp,

Cys-Thr-Cys-Phe-Thr-Tyr-Lys-Asp-Lys-Glu-Cys-Val-Tyr-

Phe-Cys-His-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp,

Cys-Ser-Ala-Ser-Ser-Leu-Met-Asp-Lys-Glu-Ala-Val-Tyr-

Phe-Cys-His-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp,

Cys-Ser-Cys-Lys-Asp-Met-Thr-Asp-Lys-Glu-Cys-Leu-Asn-

Phe-Cys-His-Gln-Asp-Val-Ile-Trp,

Ala-Ser-Cys-Ser-Ser-Leu-Met-Asp-Lys-Glu-Cys-Val-Tyr-

Phe-Ala-His-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp,

Ala-Ser-Ala-Ser-Ser-Leu-Met-Asp-Lys-Glu-Ala-Val-Tyr-Phe-Ala-His-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp,

Cys-Ser-Cys-Ser-Ser-Leu-Met-Asp-Lys-Glu-Cys-Val-Tyr-Phe-Cys-His-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp,

Cys-Thr-Cys-Phe-Thr-Tyr-Lys-Asp-Lys-Glu-Ala-Val-Tyr-Phe-Ala-His-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp,

Cys-Val-Tyr-Phe-Cys-His-Gln-Asp-Val-Ile-Trp,

N-Acetyl-Leu-Met-Asp-Lys-Glu-Ala-Val-Tyr-Phe-Ala-His-Gln-Asp-Val-Ile-Trp,

Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe-His-Leu,

Ac-Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe-His-Leu,

Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe,

Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe,

Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe-His-Leu,

Sar-Arg-Val-Tyr-Val-His-Pro-Ala,

For-Met-Leu-Phe,

For-Met-Leu-Phe-Lys,

die Teilsequenzen

His-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp,

D-Trp-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp,

Phe-D-Trp-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp,

Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe,

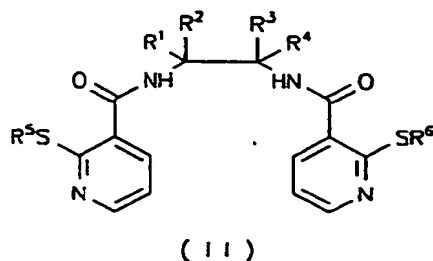
Val-Tyr-Ile-His-Pro,

oder die cyclischen Aminosäuresequenzen

Cyclo-(DTrp-DAsp-Pro-DVal-Leu),

Cyclo-(DGlu—Ala—alloDlle—Leu—DTrp)
auf.

Ein weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind ferner Verbindungen der allgemeinen Formel (II)



worin

R^1 und R^3 gleich oder unterschiedlich sind und jeweils für ein Wasserstoffatom und/oder für einen verzweigten oder unverzweigten C_{1-6} -Alkylrest oder gemeinsam einen gegebenenfalls substituierten, gesättigten oder ungesättigten, aliphatischen oder aromatischen C_{3-6} -Zyklus stehen,

R^2 und R^4 gleich oder unterschiedlich sind und jeweils für ein Wasserstoffatom, für einen verzweigten oder unverzweigten C_{1-6} -Alkylrest oder einen Rest $-CO-R^7$, worin

R^7 eine Hydroxyl-, eine verzweigte oder geradkettige, zyklische oder polyzyklische C_{1-30} -Alkoxy-, Alkenyloxy-, Polyalkenyloxy-, Alkinyloxy-, Polyalkinyloxy-, Aryloxy-, Alkylaryloxy- oder Arylalkyloxygruppe, die gegebenenfalls mit Hydroxy-, Oxy-, Oxo-, Carboxy-, Aminocarbonyl-, Alkoxycarbonyl-, Amino-, Aldehyd- oder Alkoxygruppen mit bis zu 20 Kohlenstoffatomen substituiert ist und/oder gegebenenfalls durch ein oder mehrere Heteroatome aus der Reihe O, N, S, P, As, Se unterbrochen und/oder substituiert ist und gegebenenfalls gemeinsam ein Carbonsäureanhydrid bilden oder eine $N(RaRb)$ -Gruppe, wobei Ra und Rb gleich oder verschieden sind

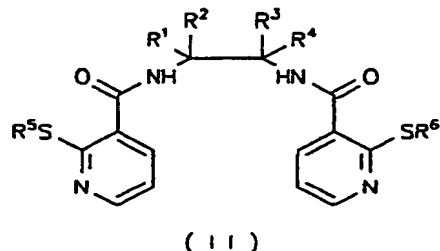
und/oder ein Wasserstoffatom, einen verzweigten oder geradkettigen, zyklischen oder polyzyklischen C_{1-30} -Alkyl-, Alkenyl-, Polyalkenyl-, Alkynyl-, Polyalkynyl-, Aryl-, Alkylaryl- oder Arylalkylrest darstellen, der gegebenenfalls mit Hydroxy-, Oxy-, Oxo-, Carboxy-, Aminocarbonyl-, Alkoxycarbonyl-, Amino-, Aldehyd- oder Alkoxygruppen mit bis zu 20 Kohlenstoffatomen substituiert ist und/oder gegebenenfalls durch ein oder mehrere Heteroatome aus der Reihe O, N, S, P, As, Se unterbrochen und/oder substituiert ist, darstellt, stehen,

R^5 und R^6 gleich oder unterschiedlich sind und jeweils für ein Wasserstoffatom, für einen verzweigten oder unverzweigten C_{1-6} -Alkylrest oder für eine Schwefelschutzgruppe stehen, deren Konjugate mit sich selektiv in erkranktem Gewebe anreichernden Substanzen, wobei zwischen diesen eine kovalente Bindung besteht und diese im Falle von Carboxyl- oder Aminogruppen enthaltenden Substanzen wie natürlich vorkommende oder modifizierte Oligonukleotide, bei denen der Abbau durch natürlich vorkommende Nukleasen verhindert oder erschwert ist, Peptiden, Proteinen, Antikörpern oder deren Fragmente amidisch oder im Falle von Hydroxylgruppen enthaltenden Substanzen wie Fettalkoholen esterartig oder im Falle von Aldehydgruppen enthaltenden Substanzen imidisch vorliegt sowie deren Komplexe mit Radioisotopen von Tc und Re.

Die Herstellung der erfindungsgemäßen Verbindungen der allgemeinen Formel (II) erfolgt dadurch, daß man die freie Thiofunktion der 2-Mercaptonicotinsäure in an sich bekannter Weise schützt und anschließend die Carboxylgruppe in an sich bekannter Weise aktiviert und in einem aprotischen Lösungsmittel unter Zusatz einer geeigneten Base mit Verbindungen der allgemeinen Formel (III)



worin R^1 , R^2 , R^3 und R^4 die voranstehend angegebene Bedeutung haben, bei Temperaturen von $-20^\circ C$ bis $180^\circ C$ zu Verbindungen der allgemeinen Formel (II)



worin R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 und R^6 die in Anspruch 1 angegebene Bedeutung haben, umgesetzt und gegebenenfalls vorhandene Schutzgruppen in an sich bekannter Weise abspaltet.

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung sind Kits, die zur Herstellung von Radiopharmaka dienen, bestehend aus einer Verbindung der allgemeinen Formel (II) oder einem erfindungsgemäßen Konjugat enthaltend Verbindungen der allgemeinen Formel (I und/oder II) und sich selektiv in Geweben anreichernden Substanzen, einem Reduktionsmittel und gegebenenfalls einem Hilfsliganden, die in trockenem Zustand oder in Lösung vorliegen, sowie einer Gebrauchsanweisung mit einer Reaktionsvorschrift zur Umsetzung der beschriebenen Verbindungen mit Technetium-99m oder Re in Form einer Pertechnetatlösung oder Perrhenatlösung.

Gegenstand der Erfindung ist auch eine radiopharmazeutische Zusammensetzung zur nicht invasiven in vivo Darstellung von Organen, Rezeptoren und rezeptorhaltigem Gewebe und/oder von atherosklerotischen Plaques, die eine Verbindung der allgemeinen Formel (I) oder ein erfindungsgemäßes Konjugat enthaltend Verbindungen der allgemeinen Formel (I und/oder II) und sich selektiv in Geweben anreichernden Substanzen, gegebenenfalls mit den in der Galenik üblichen Zusätzen, enthält, wobei die Verbindung in einem Kit mit Technetium-99m oder Re in Form einer Pertechnetat- oder Perrhenatlösung zubereitet wird.

In einer Methode zur Durchführung einer radiodiagnostischen Untersuchung wird die radiopharmazeutische Zusammensetzung in einer Menge von 0,1 bis 30 mCi, bevorzugt von 0,5 bis 10 mCi pro 70 kg Körpergewicht einem Patienten verabreicht und die vom Patienten abgegebene Strahlung aufgezeichnet.

Überraschenderweise zeigen viele der synthetisierten und mit Technetium-99m oder Re markierten Chelate eine höhere Stabilität als vergleichbare N_2S_2 - und N_3S -Systeme, die in der Literatur beschrieben sind. So konnten z. B. bei einer erfindungsgemäßen Substanz (Beispiel 2), die an ein Alkylamin gekoppelt wurde, keine Zersetzungsprodukte nach 24 h beobachtet werden. Auch konnte durch Kompetitionsversuche festgestellt werden, daß die in dieser Erfindung beschriebenen Tc-99m oder Re-Chelatoren besser als die vergleichbaren N_2S_2 , N_3S und Propylenaminnoxim-Systeme komplexieren. Die in der vorliegenden Erfindung beschriebenen Chelate und Chelatbildner sind damit eindeutig besser für diagnostische und therapeutische Zwecke geeignet als die bisher bekannten Systeme. Ein besonderer Vorteil liegt in den milden Markierungsbedingungen. So gelingt nach Abspaltung der Schutzgruppen die Markierung der erfindungsgemäßen Liganden sowie deren Kopplungsprodukten an sich selektiv in erkrankten Geweben anreichernden Substanzen bei Raumtemperatur und bei physiologischem pH-Wert. Durch Wahl geeigneter Schutzgruppen, die sich je nach Kopplungsprodukt mit unterschiedlichen Reaktionsbedingungen abspalten lassen, ist stets gewährleistet, daß unerwünschte Nebenreaktionen bei der Aufreinigung der Kopplungsprodukte nicht auftreten können. Dies bietet die Gewähr, daß keine unerwünschten Vernetzungsreaktionen oder Oxidationen freier Sulfhydrylgruppen zu Disulfiden unter Reinigungsbedingungen auftreten. Solche Veränderungen beeinflussen häufig die Markierungsausbeute und radiochemische Reinheit und somit auch den Background durch unspezifisch gebundenes Technetium nachteilig. Die Etablierung von Schwefelschutzgruppen bzw. deren Abspaltung erfolgt nach Methoden, die dem Fachmann bekannt sind. Ein weiterer wesentlicher Vorteil der erfindungsgemäßen Verbindungen liegt in der hohen Stabilität der freien aromatischen Thiole, die besondere Schutzmaßnahmen (z. B. Schutzgasatmosphäre) im Umgang mit den Kopplungsprodukten überflüssig macht. Die Kopplung an sich selektiv in erkrankten Geweben anreichernden Substanzen erfolgt ebenfalls nach an sich dem Fachmann bekannten Methoden (z. B. Fritzberg et al.; J.Nucl.Med. 26, 7 (1987)), beispielsweise durch Umsetzung von elektrophilen Gruppen des Komplexliganden mit nukleophilen Zentren der sich selektiv in erkrankten Geweben anreichernden Substanzen oder durch Reaktion nukleophiler Gruppen des Chelators mit elektrophilen Gruppen der sich selektiv in erkrankten Geweben anreichernden Substanzen.

Als Kopplungspartner werden u. a. verschiedene Biomoleküle verwendet. So z. B. Liganden, die an spezifische Rezeptoren binden und so Veränderungen der Rezeptordichte erkennen lassen, hierzu gehören u. a. Peptide, Steroidhormone, Wachstumsfaktoren und Neurotransmitter. Kopplungsprodukte mit steroidhormon-rezeptoraffinen Substanzen ermöglichen eine verbesserte Diagnostik von Mamma- und Prostatacarzinomen (S.J. Brandes und J.A. Katzenellenbogen, Nucl.Med.Biol. 15, 53, 1988). Verschiedentlich weisen Tumorzellen eine veränderte Dichte von Rezeptoren für Peptidhormone oder Wachstumsfaktoren auf, wie z. B. den "epidermal growth factor" (EgF). Die Konzentrationsunterschiede lassen sich zur selektiven Anreicherung von Cytostatika in Tumorzellen nutzen (E.Aboud-Pirak et al, Proc.NatLAcad.Sci. USA 86, 3778, 1989). Weitere Biomoleküle sind in den Metabolismus der Zellen einschleusbare Metabolite, die einen veränderten Stoffwechsel anzeigen; hierzu gehören z. B. Fettsäuren, Saccharide, Peptide und Aminosäuren. Fettsäuren gekoppelt an die weniger stabilen N_2S_2 -Systeme wurden in der EP-0200492 beschrieben. Andere Stoffwechselprodukte wie Saccharide, Desoxyglucose, Lactat und Aminosäuren (Leucin, Methylmethionin, Glycin) wurden mit Hilfe der PET-Technik zur bildlichen Darstellung veränderter Stoffwechselvorgänge verwendet (R. Weinreich, Swiss Med. 8, 10, 1986). Auch nicht biologische Substanzen wie Misonidazol und seine Derivate, die sich in Geweben bzw. Gewebeteilen mit reduzierter Sauerstoffkonzentration irreversibel an Zellbestandteile binden, können zur spezifischen Anreicherung von radioaktiven Isotopen und somit zur bildlichen Darstellung von Tumoren oder ischämischen Regionen herangezogen werden (M.E. Shelton, J.Nucl.Med. 30; 351, 1989). Schließlich ist auch die Kopplung der neuen Chelatbildner an monoklonale Antikörper bzw. deren Fragmente, Polysaccharide wie Dextrane oder Stärken, Bleomycine, Hormone, Enzyme, Polypeptide wie Polylysin und Nukleotide vom DNA- oder RNA-Typ möglich. Günstig erwiesen sich Kopplungsprodukte der erfindungsgemäßen Chelate bzw. deren Komplexe mit Technetium-99m oder Re mit Fettalkoholen, Fettalkoholderivaten oder mit Fettalkoholaminen bzw. deren Derivate zur Detektion von atherosklerotischen Gefäßerkrankungen. Diese Derivate wurden WHHL-Kaninchen appliziert, die durch einen genetischen Defekt des LDL-Rezeptors hohe LDL-Konzentrationen im Blut aufweisen und somit atherosklerotische Läsionen aufweisen. Etwa 1 bis 6 h nach Applikation der Derivate in WHHL-Kaninchen konnte eine hohe Anreicherung in atherosklerotischen Plaques nachgewiesen werden. Bisher konnten nur sehr späte Stadien der Atherogenese mit invasiven Verfahren diagnostiziert werden. Die erfindungsgemäßen Verbindungen bieten daher den entscheidenden Vorteil, viel frühere Stadien der Atherosklerose mit einem nicht invasiven Verfahren zu diagnostizieren.

Es ist unerheblich, ob eine Markierung der beschriebenen Chelatbildner mit Technetium-99m vor oder nach der Kopplung an das sich selektiv anreichernde Molekül durchgeführt wird. Für eine Kopplung an das sich selektiv anreichernde Molekül nach einer Komplexbildung ist jedoch Voraussetzung, daß die Umsetzung des radioaktiven Komplexes mit der sich anreichernden Verbindung schnell, unter milden Bedingungen und nahezu quantitativ abläuft, so daß eine anschließende Aufreinigung nicht erforderlich ist.

Die Herstellung der erfindungsgemäßen pharmazeutischen Mittel erfolgt in an sich bekannter Weise, in dem man die erfindungsgemäßen Komplexbildner unter Zusatz eines Reduktionsmittels, vorzugsweise Zinn-(II)-Salzen wie -chlorid, -pyrophosphat oder -tartrat — und gegebenenfalls unter Zugabe der in der Galenik üblichen Zusätze — in wäßrigem Medium löst und anschließend sterilfiltriert. Geeignete Zusätze sind beispielsweise physiologisch unbedenkliche Puffer (z. B. Tromethamin), geringe Zusätze von Elektrolyten (z. B. Natriumchlorid), Stabilisatoren (z. B. Gluconat, Phosphate oder Phosphonate). Das erfindungsgemäße pharmazeutische Mittel liegt in Form einer Lösung oder in lyophilisierter Form vor und wird kurz vor der Applikation mit einer Lösung Tc-99m-Per technetat, eluiert aus kommerziell erhältlichen Mo/Tc-Generatoren, oder einer Perrhenatlösung versetzt.

Bei der nuklearmedizinischen in vivo Anwendung werden die erfindungsgemäßen pharmazeutischen Mittel in Mengen von 1×10^{-5} bis 5×10^4 nmol/kg Körpergewicht, vorzugsweise in Mengen zwischen 1×10^{-3} bis 5×10^2 nmol/kg Körpergewicht dosiert. Ausgehend von einem mittleren Körpergewicht von 70 kg beträgt die Radioaktivitätsmenge für diagnostische Anwendungen zwischen 0,05 bis 50 mCi, vorzugsweise 5 bis 30 mCi pro 70 kg Applikation. Für therapeutische Anwendungen werden zwischen 5 und 500 mCi, vorzugsweise 10 bis 350 mCi appliziert. Die Applikation erfolgt normalerweise durch intravenöse, intraarterielle, peritoneale oder intertumorale Injektion von 0,1 bis 2 ml einer Lösung der erfindungsgemäßen Mittel. Bevorzugt ist die intravenöse Applikation.

Die nachfolgenden Beispiele dienen der näheren Erläuterung des Erfindungsgegenstandes.

Beispiel 1

2-(S-Piperonyl)mercaptonicotinsäure 1

1,55 g wasserfreie 2-Mercaptonicotinsäure (10 mmol) suspendiert man in 10 ml Eisessig und gibt dazu etwa 2,28 g des Piperonylalkohols (15 mmol) sowie 2,1 ml BF_3 -Diethyletherat (15 mmol). Es wird 1–2 h bei RT gerührt, wobei sich alles klar löst. Anschließend engt man im Rotationsdampfer bei 40°C Badtemperatur ein. Der ölige Rückstand wird in Essigester gelöst. Durch Verreiben mit Diethylether kristallisiert das geschützte Nicotinsäurederivat aus.

Ausbeute: 72%

Analyse:

Ber.: C 58,12, H 3,83, N 4,84, O 22,12, S 11,08;

Gef.: C 57,77, H 3,92, N 4,65, S 11,01.

2-(S-Piperonyl)mercaptonicotinsäure-N-hydroxysuccinimidoester 2

Zu einer Lösung von 289 g der Säure 1 (10 mmol), 280 ml Triethylamin und 1,15 g N-Hydroxysuccinimid (10 mmol) in 50 ml wasserfreiem Dichlormethan werden unter Rühren bei -10°C 2,27 g DCC (11 mmol) in 50 ml wasserfreiem Dichlormethan zugegeben und 2 Stunden bei 0°C und 4 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird auf -20°C gekühlt und vom ausgefallenen Harnstoff abfiltriert. Nach Abziehen des Lösungsmittels wird der Rückstand chromatographiert (Kieselgel, Dichlormethan).

Ausbeute: 74%

Analyse:

Ber.: C 55,96, H 3,65, N 7,25, O 24,85, S 8,30;

Gef.: C 55,65, H 3,74, N 7,41, S 8,20.

N,N'-Bis[2-(S-Piperonyl)mercaptonicotincarbamoyl]ethylendiamin 3

Zu einer gerührten Lösung von 6,01 g Ethylendiamin (100 mmol) in wenig wasserfreiem Dichlormethan werden bei 0°C 5,78 des aktivierten Esters 2 (200 mmol) in wenig wasserfreiem Dichlormethan und 20,2 g Triethylamin (200 mmol) zugegeben. Es wird 2 Stunden bei 0°C und weitere 24 Stunden bei RT gerührt. Anschließend wird im Vakuum eingedampft und in Dichlormethan aufgenommen. Es wird 2× mit 0,5 N HCl und gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel abgezogen. Der Rückstand wird durch Verreiben mit Diethylether kristallisiert.

Ausbeute: 39%

Analyse:

C 59,79, H 4,35, N 9,30, O 15,93, S 10,64;

C 59,61, H 4,45, N 9,24, S 10,52.

N,N'-Bis[2-mercaptonicotincarbamoyl]ethylendiamin 4

Zu 10 ml Trifluoressigsäure werden unter Ausschluß von Sauerstoff bei Raumtemperatur 603 mg des geschützten Nicotinsäurederivates 3 (1 mmol) und eine Spur Anisol gegeben und 1 h unter Rückfluß erhitzt. Anschließend wird die Trifluoressigsäure im Vakuum abgezogen und der Rückstand in Dichlormethan aufge-

nommen. Nach Waschen mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung und Wasser wird mit Natriumsulfat getrocknet und eingeengt. Der ölige Rückstand wird durch Verreiben mit Diethylether kristallisiert.

Ausbeute: 89%

Analyse:

- 5 Ber.: C 50,28, H 4,22, N 16,75, O 9,57, S 19,18;
Gef.: C 50,20, H 4,35, N 16,56, S 19,08.

N,N'-Bis[2-mercaptinicotincarbamoyl]ethylendiamin, Technetium-99m-Komplex

- 10 10 mg der Verbindung 5 werden in 1,0 ml Ethanol gelöst. 50 µl dieser Ligand-Lösung werden mit 250 µl Ethanol, 50 µl einer desoxygenierten wäßrigen Citratlösung (50 mg/ml), 2,5 µl einer desoxygenierten Zinn(II)-chlorid-Lösung (5 mg/ml 0,1 N HCl) und 100 µl einer Per technetat-Lösung (400–1000 µCi) versetzt. Das Reaktionsgemisch wird nach einer Inkubationszeit von 10 min mittels HPLC auf die Reinheit des gebildeten Tc-Komplexes untersucht: LiChrospher RP-18 Säule, 54, 125 × 4 mm; Gradientenelution von 100% A nach 15 100% B innerhalb von 15 min (Eluent A: Acetonitril/Na-phosphat 5 mM, pH 2,0 (10/90); Eluent B: Acetonitril/Na-phosphat 5 mM, pH 2,0 (75/25); 1 ml/min. Die radiochemische Reinheit ist) 99%.

Beispiel 2

- 20 2-(S-Triphenylmethyl)mercaptinicotinsäure 5

- 1,55 g wasserfreie 2-Mercaptinicotinsäure (10 mmol) suspendiert man in 10 ml Eisessig und gibt dazu etwa 2,6 g des Triphenylmethylcarbinols (10 mmol) sowie 2,1 ml BF₃-Diethyletherat (15 mmol). Es wird 1–2 h bei RT gerührt, wobei sich alles klar löst. Anschließend engt man im Rotationsdampfer bei 40° C Badtemperatur ein. Der 25 ölige Rückstand wird in Essigester gelöst. Durch Verreiben mit Diethylether kristallisiert das geschützte Nicotinsäurederivat aus.

Ausbeute: 90%

Analyse:

- 30 Ber.: C 75,54, H 4,82, N 3,52, O 8,05, S 8,07;
Gef.: C 75,06, H 4,93, N 3,64, S 8,18.

2-(S-Triphenylmethyl)mercaptinicotinsäure-N-hydroxysuccinimidoester 6

- 35 Zu einer Lösung von 3,97 g der Säure 1 (10 mmol), 2,80 ml Triethylamin und 1,15 g N-Hydroxysuccinimid (10 mmol) in 50 ml wasserfreiem Dichlormethan werden unter Rühren bei –10° C 2,16 g DCC (11 mmol) in 50 ml wasserfreiem Dichlormethan zugegeben und 2 Stunden bei 0° C und 4 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird auf –20° C gekühlt und vom ausgefallenen Harnstoff abfiltriert. Nach Abziehen des Lösungsmittels wird der Rückstand chromatographiert (Kieselgel, Dichlormethan).

Ausbeute: 64%

40 Analyse:

- Ber.: C 70,43, H 4,48, N 5,66, O 12,94, S 6,48;
Gef.: C 70,22, H 4,68, N 5,46, S 6,44.

N,N'-Bis[2-(S-Triphenylmethyl)mercaptinicotincarbamoyl]diaminopropionsäureethylester 7

- 45 Zu einer Suspension von 2,05 Diaminopropionsäureethylester Dihydrochlorid (10 mmol) in wenig wasserfreiem Dimethylformamid werden bei 0° C zunächst 9,89 g des aktivierten Esters 6 (20 mmol) in wenig wasserfreiem Dimethylformamid und anschließend unter Eiskühlung 5,05 g Triethylamin (50 mmol) zugegeben. Es wird 2 Stunden bei 0° C und weitere 24 Stunden bei RT gerührt. Anschließend wird im Vakuum eingedampft und in 50 Dichlormethan aufgenommen. Es wird 2 × mit 0,5 N HCl und gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel abgezogen. Der Rückstand wird chromatographiert (Kieselgel, Dichlormethan).

Ausbeute: 29%

Analyse:

- 55 C 74,13, H 5,20, N 6,29, O 7,18, S 7,20;
C 73,83, H 5,45, N 6,34, S 7,28.

N,N'-Bis[2-(S-Triphenylmethyl)mercaptinicotincarbamoyl]diaminopropionsäure 8

- 60 8,91 g des Esters werden in wäßrig/ethanolischer Kalilauge (4,0 g = 72 mmol KOH, 20 ml Wasser, 40 ml Ethanol) 6 h bei RT gerührt. Anschließend wird mit Wasser verdünnt und mit halbkonz. HCl angesäuert. Der Niederschlag wird abgesaugt, gewaschen und getrocknet.

Ausbeute: 90%

Analyse:

- 65 Ber.: C 73,76, H 4,91, N 6,49, O 7,42, S 7,43;
Gef.: C 73,41, H 5,03, N 6,54, S 7,56.

N,N'-Bis[2-mercaptonicotincarbamoyl]diaminopropionsäure 9

863 mg der Säure 8 (1 mmol) werden 45 Minuten bei 0°C mit 10 ml wasserfreiem HF in Gegenwart von 5 ml Anisol und 3,5 ml Diethylsulfid behandelt. Nach Abdampfen der Säure wird der verbleibende Rückstand in Ethylacetat aufgenommen und mit Natriumhydrogencarbonat-Lösung und Wasser gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach Abziehen des Lösungsmittels verbleibt ein langsam kristallisierendes Öl

Ausbeute: 43%

Analyse:

Ber.: C 47,61, H 3,73, N 14,81, O 16,91, S 16,95;

Gef.: C 47,48, H 3,87, N 15,03, S 16,46.

N,N'-Bis[2-mercaptonicotincarbamoyl]diaminopropionsäure, Technetium-99m-Komplex

10 mg der Verbindung 5 werden in 1,0 ml Ethanol gelöst. 50 µl dieser Ligand-Lösung werden mit 100 µl Ethanol, 150 µl Phosphatpuffer pH 8,5, 50 µl einer desoxygenierten wäßrigen Citratlösung (50 mg/ml), 2,5 µl einer desoxygenierten Zinn(II)-chlorid-Lösung (5 mg/ml 0,1 N HCl) und 100 µl einer Per technetat-Lösung (400–1000 µCi) versetzt. Das Reaktionsgemisch wird nach einer Inkubationszeit von 10 min mittels HPLC auf die Reinheit des gebildeten Tc-Komplexes untersucht: LiChrospher RP-18 Säule, 5 µ, 125 × 4,6 mm; Gradientenelution von 100% A nach 100% B innerhalb von 15 min (Eluent A: Acetonitril/Na-phosphat 5 mM, pH 2,0 (10/90); Eluent B: Acetonitril/Na-phosphat 5 mM, pH 2,0 (75/25); 1 ml/min. Die radiochemische Reinheit ist > 97%.

Beispiel 3

N,N'-Bis[2-(S-Triphenylmethyl)mercaptonicotincarbamoyl]diaminopropionsäurehexylamid 10

Zu einer Lösung von 4,32 g der Säure 8 (5 mmol), 1,5 ml Triethylamin und 575 mg N-Hydroxysuccinimid (5 mmol) in 100 ml wasserfreiem Dichlormethan werden unter Rühren bei –10°C 1,13 g DCC (5,5 mmol) in 25 ml wasserfreiem Dichlormethan zugetropft und 2 Stunden bei 0°C gerührt. Anschließend wird eine Lösung von 506 mg Hexylamin (5 mmol) in Dichlormethan innerhalb von 30 Minuten zugetropft. Es wird zunächst weitere 2 Stunden bei 0°C gerührt und 12 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Produkt wird vom Harnstoff abfiltriert und das Filtrat im Vakuum eingedampft und in Dichlormethan aufgenommen. Nach erneuter Filtration wird 2 × mit 0,5 N HCl und gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel abgezogen. Der Rückstand wird durch Verreiben mit Diethylether kristallisiert.

Ausbeute: 81%

Analyse:

Ber.: C 74,89, H 5,86, N 7,40, O 5,07, S 6,78;

Gef.: C 74,71, H 5,98, N 7,31, S 6,91.

N,N'-Bis[2-mercaptonicotincarbamoyl]diaminopropionsäurehexylamid 11

946 mg des Amids 10 (1 mmol) werden 45 Minuten bei 0°C mit 10 ml wasserfreiem HF in Gegenwart von 5 ml Anisol und 3,5 ml Diethylsulfid behandelt. Nach Abdampfen der Säure wird der verbleibende Rückstand in Dichlormethan aufgenommen und mehrmals mit Wasser gewaschen und getrocknet. Chromatographische Reinigung über Kieselgel mit Dichlormethan ergibt 272 mg eines Öls.

Ausbeute: 59%

Analyse:

Ber.: C 54,64, H 5,90, N 15,17, O 10,40, S 13,89;

Gef.: C 55,04, H 6,03, N 15,43, S 13,66.

N,N'-Bis[2-mercaptonicotincarbamoyl]diamino-Propionsäurehexylamid 11, Technetium-99m-Komplex

10 mg der Verbindung 11 werden in 1,0 ml Ethanol gelöst. 50 µl dieser Ligand-Lösung werden mit 250 µl Ethanol, 50 µl einer desoxygenierten wäßrigen Citratlösung (50 mg/ml), 2,5 µl einer desoxygenierten Zinn(II)-chlorid-Lösung (5 mg/ml 0,1 N HCl) und 100 µl einer Per technetat-Lösung (400–1000 µCi) versetzt. Das Reaktionsgemisch wird nach einer Inkubationszeit von 10 min mittels HPLC auf die Reinheit des gebildeten Tc-Komplexes untersucht: LiChrospher RP-18 Säule, 5 µ, 125 × 4,6 mm; Gradientenelution von 100% A nach 100% B innerhalb von 15 min (Eluent A: Acetonitril/Na-phosphat 5 mM, pH 2,0 (10/90); Eluent B: Acetonitril/Na-phosphat 5 mM, pH 2,0 (75/25); 1 ml/min. Die radiochemische Reinheit ist > 97%.

Beispiel 4

N,N'-Bis[2-(S-Triphenylmethyl)mercaptonicotincarbamoyl]ethylendiaminocarbonyl-D-Trp-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp 12

Zu einer Lösung von 863 mg der Säure 8 (1 mmol), 280 µl Triethylamin und 115 mg N-Hydroxysuccinimid (1,0 mmol) in 10 ml wasserfreiem Dichlormethan werden unter Rühren bei –10°C 211 mg DEC (1,1 mmol) in

5 ml wasserfreiem Dichlormethan zugetropft und 2 Stunden bei 0°C gerührt. Anschließend wird eine Lösung von 845 mg H₂N—D—Trp—Leu—Asp—Ile—Ile—Trp—COOH (1 mmol) und DMF innerhalb von 30 Minuten zugetropft. Es wird zunächst weitere 2 Stunden bei 0°C gerührt und 12 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Produkt wird vom Harnstoff abfiltriert und das Filtrat im Vakuum eingedampft und in Dichlormethan aufgenommen. Nach erneuter Filtration wird 2 × mit 0,5 N HCl und gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel abgezogen. Der Rückstand wird durch Verreiben mit Diethylether kristallisiert.

Ausbeute: 36%

Analyse:

Ber.: C 68,94, H 5,96, N 9,95, O 11,36, S 3,80;

Gef.: C 70,02, H 6,08, N 9,78, S 3,52.

N,N'-Bis[2-mercaptonicotincarbamoyl]ethylendiaminocarbonyl-D—Trp—Leu—Asp—Ile—Ile—Trp 13

1,69 g des Peptides 11 (1 mmol) wird 45 Minuten bei 0°C mit 20 ml wasserfreiem HF in Gegenwart von 5 ml Anisol und 3,5 ml Diethylsulfid behandelt. Nach Abdampfen der Säure wird der verbleibende Rückstand in 5% Essigsäure aufgenommen, mehrmals mit Diethylether gewaschen und lyophilisiert. Chromatographische Reinigung über Sephadex G-10 mit 0,2 M Essigsäure ergibt 579 mg eines Öls.

Ausbeute: 48%

Analyse:

Ber.: C 58,79, H 6,02, N 13,94, O 15,93, S 5,32;

Gef.: C 58,39, H 6,31, N 13,88, S 5,22.

N,N'-Bis[2-mercaptonicotincarbamoyl]ethylendiaminocarbonyl-D—Trp—Leu—Asp—Ile—Ile—Trp 13, Technetium-99m-Komplex

10 mg der Verbindung 11 werden in 1,0 ml Ethanol gelöst. 50 µl dieser Ligand-Lösung werden mit 100 µl Ethanol, 150 µl Phosphatpuffer pH 8,5, 50 µl einer desoxygenierten wäßrigen Citratlösung (50 mg/ml), 2,5 µl einer desoxygenierten Zinn(II)-chlorid-Lösung (5 mg/ml 0,1 N HCl) und 100 µl einer Pertechnetat-Lösung (400—1000 µCi) versetzt. Das Reaktionsgemisch wird nach einer Inkubationszeit von 10 min mittels HPLC auf die Reinheit des gebildeten Tc-Komplexes untersucht: LiChrospher RP-18 Säule, 5 µ, 125 × 4,6 mm; Gradientenelution von 100% A nach 100% B innerhalb von 15 min (Eluent A: Acetonitril/Na-phosphat 5 mM, pH 2,0 (10/90); Eluent B: Acetonitril/Na-phosphat 5 mM, pH 2,0 (75/25); 1 ml/min. Die radiochemische Reinheit ist > 96%.

Beispiel 5

Diaminobornsteinsäureethylester 14

In die Mischung von 5 g Diaminobornsteinsäure (34 mmol) und 100 ml Ethanol werden unter Rühren 1,5 h trockenes HCl-Gas eingeleitet und 6 h zum Sieden erhitzt. Nach Abkühlung auf Raumtemperatur wird das Lösungsmittel abgezogen. Es verbleiben 6,97 g weiße Kristalle.

Ausbeute: 74%

Analyse:

Ber.: C 34,67, H 6,55, N 10,11, O 23,09;

Gef.: C 34,82, H 6,71, N 9,96.

N,N'-Bis[2-(S-Triphenylmethyl)mercaptonicotincarbamoyl]diamino-bornsteinsäureethylester 15

Zu einer gerührten Lösung von 2,77 g 14 (10 mmol) in wenig wasserfreiem THF bei 0°C 744 mg des aktivierten Esters (20 mmol) in wenig wasserfreiem THF und 2,02 g Triethylamin (20 mmol) zugegeben. Es wird 2 Stunden bei 0°C und weitere 24 Stunden bei RT gerührt. Anschließend wird im Vakuum eingedampft und in Dichlormethan aufgenommen. Es wird 2 × mit 0,5 N HCl gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel abgezogen. Der Rückstand wird durch Verreiben mit Diethylether kristallisiert.

Ausbeute: 41%

Analyse:

Ber.: C 72,33, H 5,23, N 5,82, O 9,97, S 6,66;

Gef.: C 72,09, H 5,43, N 5,76, S 6,46.

N,N'-Bis[2-(S-Triphenylmethyl)mercaptonicotincarbamoyl]diamino-bornsteinsäure 16

5,87 des Esters werden in wäßrig/ethanolischer Kalilauge (4,0 g = 72 mmol KOH, 20 ml Wasser, 40 ml Ethanol) 6 h bei RT gerührt. Anschließend wird mit Wasser verdünnt und mit halbkonz. HCl angesäuert. Der Niederschlag wird abgesaugt, gewaschen und getrocknet.

Ausbeute: 87%

Analyse:

Ber.: C 71,50, H 4,67, N 6,18, O 10,58, S 7,07;

Gef.: C 70,94, H 4,85, N 6,16, S 7,11.

N,N'-Bis[2-(S-Triphenylmethyl)mercaptonicotincarbamoyl]diamino-bernsteinsäureanhydrid 17

Man erhitzt 3,32 g (5 mmol) des Bernsteinsäurederivats und 1,17 g (15 mmol) Acetylchlorid solange unter Rückfluß bis das Bernsteinsäurederivat vollständig in Lösung gegangen ist. Der Überschuß an Acetylchlorid wird im Vakuum abgezogen und der Rückstand über Phosphorpentaoxid im Vakuum getrocknet und aus Dichlormethan/Petrolether umkristallisiert.

Ausbeute: 81%

Analyse:

Ber.: C 72,95, H 4,54, N 6,30, O 9,00, S 7,21;

Gef.: C 72,65, H 4,67, N 6,11, S 7,44.

N,N'-Bis[2-(S-Triphenylmethyl)mercaptonicotincarbamoyl]-2,3-diamino-2-[carbonyl(Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe)propionsäure 18

Zu einer Lösung von 889 mg des Säureanhydrids und 505 mg Triethylamin in wasserfreiem Dimethylformid wird die Lösung von 775 mg des Peptids $H_2N-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe-COOH$ in wenig Dimethylformid langsam zugegeben und 24 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird das Lösungsmittel im Vakuum abgezogen und der Rückstand durch Verreiben mit Diethylether kristallisiert.

Ausbeute: 31%

Analyse:

Ber.: C 67,85, H 5,69, N 10,10, O 12,50, S 3,85;

Gef.: C 67,54, H 5,78, N 10,01, S 3,47.

N,N'-Bis[2-mercaptonicotincarbamoyl]-2,3-diamino-2-[carbonyl(Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe)]propionsäure 19

1,66 g des Peptides 18 (1 mmol) wird 45 Minuten bei 0°C mit 20 ml wasserfreiem HF in Gegenwart von 5 ml Anisol und 3,5 ml Diethylsulfid behandelt. Nach Abdampfen der Säure wird der verbleibende Rückstand in 5% Essigsäure aufgenommen und mehrmals mit Diethylether gewaschen und lyophilisiert. Chromatographische Reinigung über Sephadex G-10 mit 0,2 M Essigsäure ergibt 636 mg eines Öls.

Ausbeute: 54%

Analyse:

Ber.: C 57,03, H 5,64, N 14,25, O 17,64, S 5,44;

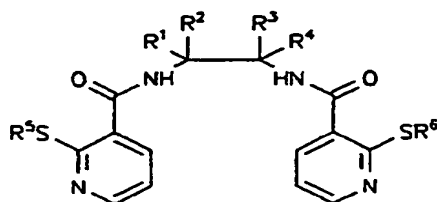
Gef.: C 57,23, H 5,71, N 14,18, S 5,23.

N,N'-Bis[2-mercaptonicotincarbamoyl]ethylendiaminocarbonyl-D-Trp-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp, Technetium-99m-Komplex

10 mg der Verbindung 19 werden in 1,0 ml Ethanol gelöst. 50 µl dieser Ligand-Lösung werden mit 100 µl Ethanol, 150 µl Phosphatpuffer pH 8,5, 50 µl einer desoxygenierten wäßrigen Citratlösung (50 mg/ml), 2,5 µl einer desoxygenierten Zinn(II)-chlorid-Lösung (5 mg/ml 0,1 N HCl) und 100 µl einer Pertechnetat-Lösung (400–1000 µCi) versetzt. Das Reaktionsgemisch wird nach einer Inkubationszeit von 10 min mittels HPLC auf die Reinheit des gebildeten Tc-Komplexes untersucht: LiChrospher RP-18 Säule, 5 µ, 125 × 4,6 mm; Gradientenelution von 100% A nach 100% B innerhalb von 15 min (Eluent A: Acetonitril/Na-phosphat 5 mM, pH 2,0 (10/90); Eluent B: Acetonitril/Na-phosphat 5 mM, pH 2,0 (75/25); 1 ml/min. Die radiochemische Reinheit ist > 94%.

Patentansprüche**1. Verbindungen der allgemeinen Formel (I)****M – L (I)**

worin

M ein Radioisotop von Tc oder Re und L einen Liganden der allgemeinen Formel (II)

(I I)

bedeutet, worin

R¹ und R³ gleich oder unterschiedlich sind und jeweils für ein Wasserstoffatom und/oder für einen verzweigten oder unverzweigten C₁-₆-Alkylrest oder gemeinsam einen gegebenenfalls substituierten, gesättigten oder ungesättigten, aliphatischen oder aromatischen C₃-₆-Zyklus stehen,

R² und R⁴ gleich oder unterschiedlich sind und jeweils für ein Wasserstoffatom, für einen verzweigten oder unverzweigten C₁-₆-Alkylrest oder einen Rest -CO-R⁷, worin

R⁷ eine Hydroxyl-, eine verzweigte oder geradkettige, zyklische oder polyzyklische C₁-₃₀-Alkoxy-, Alkenyloxy-, Polyalkenyloxy-, Alkinyloxy-, Polyalkinyloxy-, Aryloxy-, Alkylaryloxy- oder Arylalkyloxygruppe, die gegebenenfalls mit Hydroxy-, Oxy-, Oxo-, Carboxy-, Aminocarbonyl-, Alkoxy-carbonyl-, Amino-, Aldehyd- oder Alkoxygruppen mit bis zu 20 Kohlenstoffatomen substituiert ist und/oder gegebenenfalls durch ein oder mehrere Heteroatome aus der Reihe O, N, S, P, As, Se unterbrochen und/oder substituiert ist und

gegebenenfalls gemeinsam ein Carbonsäureanhydrid bilden oder eine N(RaRb)-Gruppe,

wobei Ra und Rb gleich oder verschieden sind und/oder ein Wasserstoffatom, einen verzweigten oder geradkettigen, zyklischen oder polyzyklischen C₁-₃₀-Alkyl-, Alkenyl-, Polyalkenyl-, Alkynyl-, Polyalkinyl-, Aryl-, Alkylaryl- oder Arylalkylrest darstellen, der gegebenenfalls mit Hydroxy-, Oxy-, Oxo-, Carboxy-, Aminocarbonyl-, Alkoxy-carbonyl-, Amino-, Aldehyd- oder Alkoxygruppen mit bis zu 20 Kohlenstoffatomen substituiert ist und/oder gegebenenfalls durch ein oder mehrere Heteroatome aus der Reihe O, N, S, P, As, Se unterbrochen und/oder substituiert ist, darstellt, stehen,

R⁵ und R⁶ gleich oder unterschiedlich sind und jeweils für ein Wasserstoffatom, für einen verzweigten oder unverzweigten C₁-₆-Alkylrest oder für eine Schwefelschutzgruppe stehen.

2. Verbindungen nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß R¹ und R² für ein Wasserstoffatom stehen.

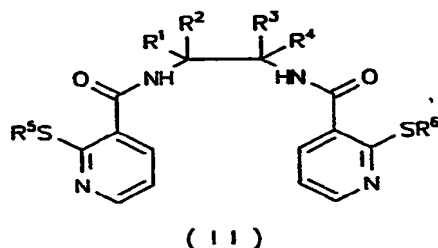
3. Verbindungen nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß R³ und R⁴ unterschiedlich sind und R³ für ein Wasserstoffatom und R⁴ für einen Rest -CO-R⁷,

worin R⁷ eine Hydroxyl-, eine verzweigte oder geradkettige C₁-₃₀-Alkoxy- oder eine N(RaRb)-Gruppe bedeutet, wobei

Ra und Rb gleich oder verschieden sind und/oder ein Wasserstoffatom, einen verzweigten oder geradkettigen, zyklischen oder polyzyklischen C₁-₃₀-Alkylrest darstellen, der gegebenenfalls mit Hydroxy-, Oxy-, Oxo-, Carboxy-, Aminocarbonyl-, Alkoxy-carbonyl-, Amino-, oder Alkoxygruppen mit bis zu 20 Kohlenstoffatomen substituiert ist und/oder gegebenenfalls durch ein oder mehrere Heteroatome aus der Reihe O, N, S unterbrochen und/oder substituiert ist, stehen.

4. Verbindungen nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß R³ und R⁴ gleich sind und gemeinsam ein Carbonsäureanhydrid bilden.

5. Liganden der allgemeinen Formel (II)



worin R¹, R², R³, R⁴, R⁵ und R⁶ jeweils die in Anspruch 1 angegebene Bedeutung haben.

6. Liganden nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, daß R¹ und R² für ein Wasserstoff stehen.

7. Liganden nach Anspruch 5 oder 6, dadurch gekennzeichnet, daß R³ und R⁴ unterschiedlich sind und R³ für ein Wasserstoffatom und R⁴ für einen Rest -CO-R⁷, worin

R⁷ eine Hydroxyl-, eine verzweigte oder geradkettige C₁-₃₀-Alkoxy- oder eine N(RaRb)-Gruppe, wobei Ra und Rb gleich oder verschieden sind und/oder ein Wasserstoffatom, einen verzweigten oder geradkettigen, zyklischen oder polyzyklischen C₁-₃₀-Alkylrest darstellen, der gegebenenfalls mit Hydroxy-, Oxy-, Oxo-, Carboxy-, Aminocarbonyl-, Alkoxy-carbonyl-, Amino- oder Alkoxygruppen mit bis zu 20 Kohlenstoffatomen substituiert ist und/oder gegebenenfalls durch ein oder mehrere Heteroatome aus der Reihe O, N, S unterbrochen und/oder substituiert ist, darstellt, stehen.

8. Verbindungen nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, daß R³ und R⁴ gleich sind und gemeinsam ein Carbonsäureanhydrid bilden.

9. Konjugate, enthaltend eine Verbindung der allgemeinen Formel (I und/oder II) und sich selektiv in erkranktem Gewebe anreichernden Substanzen, wobei zwischen diesen eine kovalente Bindung besteht und diese im Falle von Carboxyl- oder Aminogruppen enthaltenden Substanzen wie natürlich vorkommende oder modifizierte Oligonukleotide, bei denen der Abbau durch natürlich vorkommende Nukleasen verhindert oder erschwert ist, Peptiden, Proteinen, Antikörpern oder deren Fragmente amidisch oder im Falle von Hydroxylgruppen enthaltenden Substanzen wie Fettalkoholen esterartig oder im Falle von Aldehydgruppen enthaltenden Substanzen imidisch vorliegt.

10. Konjugate nach Anspruch 9, dadurch gekennzeichnet, daß die sich in erkranktem Gewebe anreichernden Substanzen Peptide wie Endotheline, Teilsequenzen von Endothelinen, Endothelin-Analoga, Endothelin-Derivate, Endothelin-Antagonisten oder Angiotensine, Teilsequenzen von Angiotensinen, Angiotensin-Analoga, Angiotensin-Derivate und Angiotensin-Antagonisten sowie chemotaktische Peptide bedeuten.

11. Konjugate nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, daß die Peptide die folgenden Sequenzen oder Teile davon

Cys-Ser-Cys-Ser-Ser-Leu-Met-Asp-Lys-Glu-Cys-Val-Tyr

5

Phe-Cys-His-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp,

10

Cys-Ser-Cys-Ser-Ser-Trp-Leu-Asp-Lys-Glu-Cys-Val-Tyr-

15

Phe-Cys-His-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp,

Cys-Thr-Cys-Phe-Thr-Tyr-Lys-Asp-Lys-Glu-Cys-Val-Tyr-

20

Phe-Cys-His-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp,

25

Cys-Ser-Ala-Ser-Ser-Leu-Met-Asp-Lys-Glu-Ala-Val-Tyr-

30

Phe-Cys-His-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp,

Cys-Ser-Cys-Lys-Asp-Met-Thr-Asp-Lys-Glu-Cys-Leu-Asn-

35

Phe-Cys-His-Gln-Asp-Val-Ile-Trp,

40

Ala-Ser-Cys-Ser-Ser-Leu-Met-Asp-Lys-Glu-Cys-Val-Tyr-

45

Phe-Ala-His-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp,

Ala-Ser-Ala-Ser-Ser-Leu-Met-Asp-Lys-Glu-Ala-Val-Tyr-Phe-Ala-His-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp,

50

Cys-Ser-Cys-Ser-Ser-Leu-Met-Asp-Lys-Glu-Cys-Val-Tyr-Phe-Cys-His-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp,

Cys-Thr-Cys-Phe-Thr-Tyr-Lys-Asp-Lys-Glu-Ala-Val-Tyr-Phe-Ala-His-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp,

55

Cys-Val-Tyr-Phe-Cys-His-Gln-Asp-Val-Ile-Trp,

N-Acetyl-Leu-Met-Asp-Lys-Glu-Ala-Val-Tyr-Phe-Ala-His-Gln-Asp-Val-Ile-Trp, Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe-His-Leu,

60

Ac-Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe-His-Leu,

Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe,

Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe,

Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe-His-Leu,

65

Sar-Arg-Val-Tyr-Val-His-Pro-Ala,

For-Met-Leu-Phe,

For-Met-Leu-Phe-Lys,

die Teilsequenzen

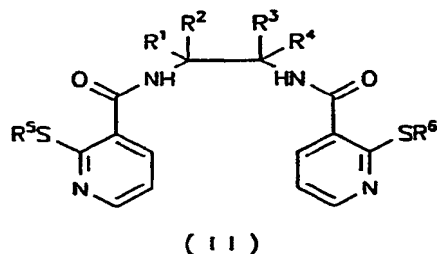
His—Leu—Asp—Ile—Ile—Trp,
D—Trp—Leu—Asp—Ile—Ile—Trp,
Phe—D—Trp—Leu—Asp—Ile—Ile—Trp,
Val—Tyr—Ile—His—Pro—Phe,
Val—Tyr—Ile—His—Pro,

oder die cyclischen Aminosäuresequenzen

Cyclo-(DTrp—DAsp—Pro—DVal—Leu),
Cyclo-(DGIu-Ala-alloDle—Leu—DTrp)

aufweisen.

12. Verfahren zur Herstellung einer Verbindung der allgemeinen Formel (I), dadurch gekennzeichnet, daß man Technetium-99m oder Re in Form von Pertechnetat oder Perrhenat in Gegenwart eines Reduktionsmittels und gegebenenfalls eines Hilfsliganden mit einer Verbindung der allgemeinen Formel (II)

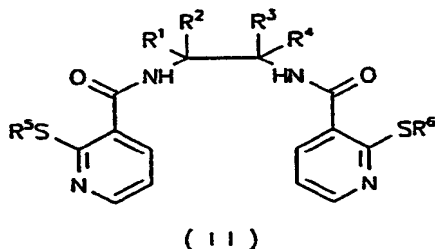


worin R^1, R^2, R^3, R^4, R^5 und R^6 die in Anspruch 1 angegebene Bedeutung haben, umgesetzt.

13. Verfahren zur Herstellung von Liganden der allgemeinen Formel (II), dadurch gekennzeichnet, daß man S-geschützte Nicotinsäure in an sich bekannter Weise in einem aprotischen Lösungsmittel unter Zusatz einer geeigneten Base in einen gegebenenfalls aktivierten Ester überführt und anschließend mit Verbindungen der allgemeinen Formel (III)



worin R^1, R^2, R^3 und R^4 die in Anspruch 1 angegebene Bedeutung haben, bei Temperaturen von -200 bis $180^\circ C$ zu Verbindungen der allgemeinen Formel (II)



worin R^1, R^2, R^3, R^4, R^5 und R^6 die in Anspruch 1 angegebene Bedeutung haben, umgesetzt

und gegebenenfalls vorhandene Schutzgruppen in an sich bekannter Weise abspaltet.

14. Kit zur Herstellung von Radiopharmaka, bestehend aus einer Verbindung der allgemeinen Formel (II) gemäß einem der Ansprüche 5 bis 8 oder einem Konjugat gemäß einem der Ansprüche 9 bis 11 sowie einem Reduktionsmittel und gegebenenfalls einem Hilfsliganden, die in trockenem Zustand oder in Lösung vorliegen, sowie einer Gebrauchsanleitung mit einer Reaktionsvorschrift zur Umsetzung der beschriebenen Verbindungen mit Technetium-99m oder Re in Form einer Pertechnetatlösung oder Perrhenatlösung.

15. Radiopharmazeutische Zusammensetzung zur nicht invasiven in vivo Darstellung von Organen, Rezeptoren und rezeptorhaltigem Gewebe und/oder von atherosklerotischen Plaques, dadurch gekennzeichnet, daß sie eine Verbindung nach einem der Ansprüche 1 bis 4 oder ein Konjugat gemäß einem der Ansprüche 9 bis 11 sowie gegebenenfalls mit den in der Galenik üblichen Zusätzen enthält, wobei die Verbindung in einem Kit nach Anspruch 14 mit Technetium-99m oder Re in Form einer Pertechnetat- oder Perrhenatlösung zubereitet wird.

16. Verfahren zur radiodiagnostischen Untersuchung, gekennzeichnet dadurch, daß eine radiopharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 15 in einer Menge von 0,1 bis 30 mCi, bevorzugt von 0,5 bis 10 mCi pro 70 kg Körpergewicht einem Patienten verabreicht und die vom Patienten abgegebene Strahlung aufgezeichnet wird.